

# EFEK PEMBERIAN PLUMBUM (TIMAH HITAM) ORGANIK PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

## EFFECTS OF ORGANIC LEAD ADMINISTRATION IN RATS (*Rattus norvegicus*)

Bambang Hariono

Bagian Patologi Klinik FKH UGM

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sampai sejauh mana efek senyawa plumbum organik pada tikus percobaan. Pemberian senyawa 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu menyebabkan gejala saraf, tidak mengakibatkan anemia tetapi terjadi penurunan berat badan ( $P < 0,01$ ). Absorpsi plumbum melalui saluran gastrointestinal mencapai sekitar 47% dan diekskresikan lewat ginjal sekitar 2,17%. Gejala saraf terdeteksi awal pada minggu ke-6 seperti agresivitas, sempoyongan, tremor otot dan sensitif terhadap rangsangan dari luar disertai kehilangan nafsu makan, bulu kusam, salivasi dan kurus. Level kreatinin, BUN dan ALT tikus perlakuan tidak mengalami perubahan. Akumulasi plumbum tertinggi dalam jaringan lunak seperti hati kemudian disusul ginjal, otak, jantung, paru, otot dan testis. Kadar plumbum tertinggi dalam jaringan keras ditemukan di tulang rusuk disusul tulang kepala, paha dan gigi, serta paling rendah di bulu. Gambaran histopatologik terlihat degenerasi hidropik, pelebaran dan kongesti sinusoid pada hati tikus perlakuan dari minggu ke-6 sampai minggu ke-10. Epitel tubulus konvolutus proksimal ginjal terlihat vakuolisasi, pelebaran lumen tubulus, banyak mengandung runtuhnya sel dan ekskret debris. Pelebaran ruangan Bowman, tetapi tidak ditemukan benda-benda inklusi baik pada ginjal maupun hati. Terlihat perdarahan dan kongesti pada jaringan paru. Semua testis tikus perlakuan mengalami perubahan struktur tubuli semeniferi dengan pengecilan diameter, pelepasan hiposeluler lapisan germinal dari membrana basalis, penurunan produksi spermatosit dan cedera pada spermatosit dan spermatid disertai udem jaringan interstisial dari tingkat ringan sampai sedang. Degenerasi dan udem korteks serebrum, serebelum, medula spinalis dan sel-sel saraf. Pemeriksaan mikroskopik elektron sangat dominan adanya pembengkakan lisosom dan mitokondria disertai pemendekan krista-kristanya atau hilang pada berbagai jaringan yang diperiksa. Pembengkakan dan gangguan selaput mielin terlihat pada serebrum, serebelum dan medula spinalis. Tidak dijumpai benda-benda inklusi intranukleus dalam sel jaringan.

**Kata kunci:** plumbum,  $\delta$ -ALAD, BUN, ALT, kreatinin

### ABSTRACT

Administration of 1,5 mg triethyl lead acetate/kg body weight/orally/day/rat for 10 weeks in rats, showed nervous signs without anaemia but mean body weight gain was significantly depressed ( $P < 0.01$ ) as compared to controls. Lead absorption through gastrointestinal tract was approximately 47% then excretion through kidney was approximately 2,17%. Nervous signs was first detected at week-6 which included aggressiveness, disorientation, muscle tremor, and irritable behavior when exposed to external stimuli followed by loss appetite, dullness of fur, increased salivation and poor condition. Creatinine, BUN and ALT levels were no significantly changed. The highest lead concentration in soft tissues was liver, followed by kidney, brain, heart, lung, muscle and testis. The highest lead concentration in hard tissue was rib, followed by skull, femur, teeth and fur. Histopathologic examination showed hydrophic degeneration, enlargement and congestion of rat treated sinusoids since week-6 to week-10. The proximal convoluted tubular epithelium of kidney showed vacuolation, enlargement of lumen tubules, some of which contained cellular and excretory debris. Distention of renal Bowman's space but there were no lead-inclusion bodies in kidney or liver. Haemorrhages and congestion were frequently found in lung tissues. The testes of all lead intoxicated-rats, demonstrated marked alteration of the structure of seminiferous tubules with reduction in size, detachment of the hypocellular germinal layer from the basal membrane, absence of both spermatogenesis, spermatocytes, as well as spermatid injury with slight to mild interstitial oedema. In the cerebrum and cerebellum there were degeneration and vacuolation of neurons, and spongy appearance consistent with oedema. Similar changes were observed in the spinal cord of treated rats. Electron microscopic examination showed enlargement of lysosomes, marked swelling of mitochondria and shortening or loss of cristae in several tissues. Swollen and disrupted of the myelin sheaths were found in cerebrum, cerebellum and spinal cord. The intranuclear lead inclusion bodies were not seen.

**Key words:** plumbum,  $\delta$ -ALAD, BUN, ALT, creatinine.

## PENDAHULUAN

Secara umum telah dimaklumi bahwa senyawa plumbum anorganik merupakan sumber polusi utama di lingkungan yang menyebabkan keracunan. Namun senyawa plumbum organik seperti tetraetil plumbum juga mempunyai potensi yang serupa dalam masalah polusi lingkungan. Senyawa tetraetil plumbum dapat berubah menjadi trietil plumbum dan plumbum organik dalam tubuh (Cremer, 1959; Bolanowska *et al.*, 1967). Tetraetil plumbum dapat pula berubah oleh proses dekomposisi fotolitik menjadi trietil plumbum yang lebih aktif dalam media cair (Jarvie *et al.*, 1981). Senyawa trietil plumbum merupakan derivat senyawa tetraetil plumbum yang sengaja ditambahkan ke dalam bahan bakar kendaraan bermotor, berfungsi sebagai *antiknock* guna meredam suara berisik dan meningkatkan daya kerja mesin, oleh karenanya berpotensi besar dalam masalah polusi lingkungan (Grandjean, 1984). Pada proses pembakaran dalam mesin, juga terjadi perubahan senyawa plumbum organik (Habibi, 1970; Page dan Ganje, 1970). Suatu survei menunjukkan bahwa udara perkotaan mengandung 5-30% senyawa plumbum organik (De Jonghe *et al.*, 1981). Nilai LD<sub>50</sub> untuk senyawa trietil plumbum asetat pada tikus adalah 77 mg/kg BB (Caujolle dan Voisin, 1966).

Plumbum organik dosis rendah; sekitar 1/50 kali dari dosis LD<sub>50</sub> telah diberikan pada tikus percobaan secara kronis. Penelitian ini bertujuan mengetahui proses absorpsi, akumulasi, ekskresi senyawa plumbum organik, gambaran hematologik, enzimatik dan gambaran histopatologik.

## MATERI DAN METODE

Dua puluh ekor tikus Wistar, umur 4 minggu, berat badan 200-210 g diperoleh dari *The University of Queensland's Central Animal Breeding House* (CABH), dibagi dalam 5 kelompok kontrol (2 ekor tikus per kelompok) dan 5 kelompok perlakuan (2 ekor tikus per kelompok). Setiap ekor tikus dalam

kelompok perlakuan diberi 1,5 mg trietil plumbum asetat  $[(C_2H_5)_3PbCOOCH_3]/kg$  BB/hari/tikus (Alfa Product, Thiokol/Ventron Division, USA). Setiap pasang tikus ditempatkan dalam satu kandang metabolisme dan diberi makanan standar laboratorium bentuk pelet. Satu pasang tikus dari tiap-tiap kelompok perlakuan dan kontrol dieutanasi setiap 2 minggu sekali. Kelompok terakhir diutanasi setelah 10 minggu penelitian. Pemeriksaan klinik dilakukan tiap hari dan berat badan ditimbang tiap dua minggu sekali. Dalam proses eutanasi digunakan larutan eter bersamaan dengan proses pengambilan sampel darah lewat tusukan jantung. Sampel darah selanjutnya dianalisis terhadap konsentrasi plumbum (Hyde *et al.*, 1977), nilai aktivitas  $\delta$ -ALAD ( $\delta$ -aminolevulinic acid dehydratase) (Wigfield dan Farant, 1981), kadar kreatinin (Bartels dan Bohmer, 1971), *blood urea nitrogen* (BUN) (Gutmann dan Bergmeyer, 1974), *alanine amine transferase* (ALT) (Gutmann dan Bergmeyer, 1974) dan pemeriksaan hematologik rutin (Benjamin, 1978; Jain, 1986). Sampel jaringan hati, ginjal, limpa, otak, paru, jantung, otot, gigi seri, tulang (femur, kepala, rusuk secara keseluruhan), bulu disiapkan untuk evaluasi histopatologik dan mikroskopik elektron, serta konsentrasi plumbum dengan alat *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS) (Hyde *et al.*, 1977). Sampel urin dan feses dikoleksi selama 2 minggu dan disimpan dalam *freezer* pada suhu  $-4^{\circ}C$  sebelum dianalisis konsentrasi plumbumnya (Hyde *et al.*, 1977). Data yang diperoleh dianalisis secara statistik *t-test*.

## HASIL DAN DISKUSI

### Pemeriksaan Klinik

Selama dalam penelitian, berat badan rata-rata tikus perlakuan sangat terhambat ( $P < 0,01$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol (Tabel 1). Tikus perlakuan terlihat kehilangan nafsu makan, bulu kusam, hipersalivasi, kurus dan nampak gejala saraf seperti eksitasi, agresivitas, hiperaktif, sempoyongan, tremor otot dan mencicit apabila

Tabel 1. Berat badan rata-rata tikus kelompok kontrol dan perlakuan yang diberi 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu (jumlah tikus tiap kelompok 2 ekor)

Waktu (mgg)	Kel. kontrol (g)	Kel. perlakuan (g)	Beda antara kel. kontrol dan kel.perlakuan (g)
0	205,0	203,0	2,0
2	326,0	275,0*	51,0
4	407,5	290,0**	117,5
6	431,0	286,5**	144,5
8	487,5	280,0**	207,5
10	494,0	284,5**	209,5

\* P<0,05

\*\* P<0,01

ada rangsangan dari luar. Gejala saraf terdeteksi awal pada minggu ke-6, dan selanjutnya dilakukan eutanasi. Berat feses dan volume urin cenderung menurun pada kondisi seperti ini.

Berat rata-rata dan persentase berat total hati, ginjal dan limpa untuk setiap kelompok perlakuan dan kontrol pada saat dilakukan eutanasi terlihat pada Tabel 2. Pada tabel tersebut terlihat berat absolut hati pada tikus perlakuan menurun secara signifikan ( $P<0,01$ ) bila dibandingkan tikus kelompok kontrol. Berat relatif hati dan limpa tikus perlakuan

menurun secara signifikan ( $P<0,05$ ) dibandingkan tikus kontrol. Sebaliknya, berat relatif ginjal tikus perlakuan meningkat secara signifikan ( $P<0,05$ ) dibandingkan tikus kontrol.

#### Pemeriksaan Hematologik

Data hematologik pada Tabel 3 tidak terlihat perubahan yang signifikan parameter hematologik tikus kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol. Uji preparat apus tidak terlihat sel-sel stipel atau adanya eritrosit berinti maupun retikulosit.

Tabel 2. Nilai rata-rata berat absolut dan presentase berat hati, ginjal dan limpa terhadap berat relatif untuk tiap kelompok kontrol dan tikus kelompok perlakuan dengan 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu (jumlah tikus tiap kelompok 2 ekor).

Waktu (mgg)	Kelompok kontrol						Kelompok perlakuan						Beda berat relatif antara kelompok perlakuan dan kontrol		
	berat hati	berat badan	berat ginjal	berat badan	berat limpa	berat badan	berat hati	berat badan	berat ginjal	berat badan	berat limpa	berat badan	hati	ginjal	limpa
	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	g	%	%	%	%
2	17,41	5,34	2,85	0,87	0,96	0,29	11,54*	4,20	2,55	0,93	0,65	0,24	-1,14*	+0,06	-0,05
4	17,73	4,35	3,03	0,74	0,91	0,22	12,05*	4,10	2,42	0,83	0,60	0,21	-0,19	+0,09	-0,01
6	18,23	4,23	3,23	0,75	1,20	0,28	10,88*	3,80	2,58	0,90	0,53	0,18	-0,43*	+0,15	-0,10*
8	20,25	4,15	3,56	0,73	1,51	0,31	11,24*	4,01	2,83	1,01	0,60	0,21	-0,14	+0,28*	-0,10*
10	22,30	4,51	4,25	0,86	1,72	0,35	9,19**	3,23	3,27	1,15	0,34	0,12	-1,28*	+0,29*	-0,23*

\* P<0,05

\*\* P<0,01

Tabel 3. Nilai rata-rata parameter hematologik pada tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu (jumlah tikus tiap kelompok 2 ekor).

Kel. tikus	Waktu mgg	Total Erit. $10^{12}/L$	Hb g/dL	PCV mL/dL	MCHC g/dL	MCH pg	MCV fL	An.	Poik.	Ret.	Erit. berinti %	Total Leuk. $10^9/L$	Band $10^9/L$	Neut. $10^9/L$	Limf. $10^9/L$	Mono. $10^9/L$	Eos. $10^9/L$	Baso. $10^9/L$	Trom-bosit	Apus darah
P-1	2	9,29	14,55	43,5	33,5	15,5	48,0	N	N	2,90	0	14,30	0,1	1,95	11,60	0,6	0,05	0	N	PR
K-1	2	8,80	13,70	40,0	34,0	16,0	45,0	N	N	3,20	0	10,30	0,2	1,50	8,50	0,1	0,00	0	N	N
P-2	4	8,04	14,35	41,0	35,0	18,0	51,0	N	N	3,15	0	8,65	0,0	0,65	7,80	0,1	0,10	0	N	PR
K-2	4	7,57	13,65	39,5	34,5	18,0	52,0	N	N	3,85	0	5,50	0,0	0,10	5,20	0,1	0,10	0	N	N
P-3	6	8,62	14,55	41,0	35,5	17,0	47,5	R	N	1,60	0	7,15	0,0	0,55	6,40	0,1	0,05	0	N	PR
K-3	6	8,87	14,45	43,0	34,0	16,5	48,0	N	N	1,25	0	10,0	0,3	4,30	5,30	0,1	0,05	0	N	N
P-4	8	9,44	14,25	42,0	34,5	15,0	44,0	N	N	1,75	0	6,90	0,0	0,20	5,90	0,0	0,10	0	N	PR
K-4	8	8,37	13,95	40,0	35,0	17,0	48,0	N	N	1,05	0	6,90	0,0	1,40	5,20	0,1	0,20	0	N	N
P-5	10	11,05	17,50	50,0	35,0	16,0	45,0	N	N	0,55	0	10,40	0,1	5,95	3,70	0,7	0,00	0	N	PR
K-5	10	9,36	15,50	45,0	35,0	16,5	48,0	N	N	1,85	0	9,05	0,2	1,50	7,10	0,2	0,15	0	N	N

P- : Kelompok Perlakuan No...

K- : Kelompok Kontrol No...

N : Normal

R : Ringan

PR : Polikromasia Ringan

An. : Anisositosis

Poik. : Poikilositosis

Ret. : Retikulositosis

Erit. : Eritrosit

Leuk. : Leukosit

Neut. : Neutrofil

Limf. : Limfosit

Mono. : Monosit

Eos. : Eosinofil

Baso. : Basofil

### Pemeriksaan Biokimiawi

Kadar plumbum rata-rata dalam darah, aktivitas  $\delta$ -ALAD, ALT, kadar kreatinin dan BUN tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada 2 minggu akhir pemberian dosis plumbum terlihat pada Tabel 4.

Data pada Tabel 4 terlihat bahwa kadar plumbum dalam darah tikus kelompok perlakuan sangat tinggi dibandingkan kelompok kontrol ( $P < 0,01$ ). Tidak ada perbedaan aktivitas  $\delta$ -ALAD dan ALT, kadar kreatinin dan BUN antara tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Nilai rata-rata berat feses, volume urin dan total ekskresi plumbum untuk setiap pasang tikus terlihat pada Tabel 5. Data pada Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai rata-rata

persentase plumbum yang diberikan telah diekskresikan melalui feses selama 2 minggu penelitian mencapai 53,17% dengan kisaran 47,05-65,63%, lebih rendah dibandingkan dengan pemberian plumbum anorganik yaitu 84% (0,5 g plumbum asetat netral/kg BB/oral/hari/tikus) (Hariono, 2005). Jadi kira-kira 47% dari jumlah plumbum yang diberikan diabsorpsi melalui saluran gastrointestinal. Sekitar 2,17% plumbum yang diberikan diekskresikan melalui urin, lebih tinggi dibandingkan pemberian plumbum anorganik yaitu 0,006% (Hariono, 2005).

Nilai kadar total plumbum dan persentase plumbum yang terdistribusi dalam hati, ginjal dan limpa pada tiap kelompok perlakuan terlihat pada Tabel 6. Nilai parameter tersebut pada kelompok kontrol diabaikan.

Tabel 4. Nilai rata-rata Pb darah, aktivitas  $\delta$ -ALAD, ALT kadar kreatinin dan BUN tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu (jumlah tiap kelompok 2 ekor).

Waktu dlm. mgg	Pb darah $\mu\text{g/mL}$	$\delta$ -ALAD <i>Inactivated/activated</i> U/L/min./37°C	Kreatinin $\mu\text{mol/L}$	BUN mmol/L	ALT U/L
2	17,71* (0,00)	1,24/4,11 (1,56/4,99)	49,5 (31,0)	9,25 (7,70)	40,5 (38,0)
4	27,82* (0,04)	1,17/2,83 (1,21/3,13)	49,0 (49,5)	10,20 (9,15)	25,0 (22,5)
6	19,52* (0,15)	1,29/5,25 (1,70/5,25)	55,5 (76,0)	10,75 (8,30)	34,5 (36,5)
8	26,20* (0,07)	0,88/3,42 (0,01/2,74)	79,0 (72,5)	8,45 (9,95)	49,5 (53,0)
10	28,28* (0,05)	0,47/2,09 (0,24/2,73)	56,5 (56,5)	16,05 (8,20)	94,5 (37,5)

( ) : nilai kelompok kontrol

\*  $P < 0,01$

Persentase plumbum yang terdistribusi dalam hati, ginjal dan limpa terlihat rendah dan cenderung menurun seiring waktu pemaparan. Namun yang menarik adalah konsentrasi plumbum dalam darah cenderung meningkat. Kadar plumbum tidak tampak kumulatif dalam ginjal, namun terlihat kadar yang tinggi sampai sedang dalam hati dan ginjal. Kadar plumbum dalam ginjal dan hati nampak sebanding. Kadar plumbum dalam ginjal nampak lebih rendah apabila dibandingkan dengan pemberian plumbum anorganik pada penelitian terdahulu (Hariono, 2005). Sebaliknya kadar plumbum dalam hati terlihat lebih tinggi dibandingkan dalam hati tikus yang diberi senyawa plumbum

anorganik (Hariono, 2005). Hal ini sehubungan dengan senyawa plumbum organik mempunyai afinitas yg lebih tinggi terhadap globin darah daripada senyawa plumbum anorganik sehingga kadar plumbum dalam darah sangat tinggi (Byington *et al.*, 1980). Hati merupakan tempat metabolisme dan menerima aliran darah sangat besar daripada ginjal sebagai tempat eliminasi hasil sisa metabolisme.

Kadar plumbum dalam jaringan termasuk tulang dan bulu terlihat pada Tabel 7.

Data dalam Tabel 7 terlihat kadar plumbum dalam jaringan lunak termasuk otak, paru, jantung, otot dan testis pada tikus kelompok perlakuan dalam kisaran sempit

Tabel 5. Rata-rata akumulasi plumbum yang diberikan, total dan persentase plumbum dalam feses dan urin tikus yang diberi 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu (jumlah tikus tiap kelompok 2 ekor).

Waktu dlm mgg	Total trietil Pb asetat yg diberikan mg	Total Pb yg diberikan mg	Total feses yg diekskresikan g	Total Pb dlm feses $\mu\text{g}$	Persentase Pb yg diekskresikan dlm feses %	Total urin yg diekskresikan mL	Total Pb dalam urin $\mu\text{g}$	Persentase Pb yg diekskresikan dlm. urin %
2	18,16	10,64	152,0	5198,40	48,86	220,0	68,20	0,64
4	20,31	11,90	329,0	7809,90	65,63	490,0	390,00	3,28
6	30,15	17,67	517,0	9976,10	56,46	565,0	389,10	2,20
8	45,36	26,58	792,0	12717,00	47,84	975,0	661,30	2,49
10	61,44	36,00	975,0	16941,00	47,06	965,0	806,50	2,24
Rata-rata per dua minggu					53,17			2,17

Tabel 6. Nilai rata-rata total dan persentase plumbum yang terdistribusi dalam hati, ginjal dan limpa tikus kelompok perlakuan dengan 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu (jumlah tikus tiap kelompok 2 ekor).

Waktu dlm mgg	Total Pb yg diberikan mg	Berat hati g	Pb dlm hati $\mu\text{g/g}$	Total Pb dalam hati $\mu\text{g}$	% Pb dlm hati %	Berat ginjal g	Pb dlm ginjal $\mu\text{g/g}$	Total Pb dlm ginjal $\mu\text{g}$	% Pb dalam ginjal %	Berat limpa g	Pb dlm limpa $\mu\text{g/g}$	Total Pb dlm limpa $\mu\text{g}$	% Pb dlm limpa %
2	10,64	11,54	15,41	177,83	1,67	2,55	20,12	51,31	0,48	0,65	4,10	2,67	0,03
4	11,90	12,05	21,49	258,95	2,18	2,42	21,08	51,01	0,43	0,60	4,36	2,62	0,02
6	17,67	10,88	19,66	213,90	1,21	2,58	28,14	72,60	0,41	0,53	4,76	2,52	0,14
8	26,58	11,24	27,50	309,10	1,16	2,83	28,09	79,49	0,30	0,60	6,29	3,77	0,01
10	36,00	9,19	35,27	324,13	0,90	3,27	21,70	70,96	0,20	0,34	15,39	5,23	0,01

Tabel 7. Nilai rata-rata kadar plumbum dalam berbagai jenis jaringan ( $\mu\text{g/g}$ ) pada tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi 1,5 mg trietil plumbum asetat/kg BB/oral/hari/tikus selama 10 minggu (jumlah tikus tiap kelompok 2 ekor).

Waktu mgg	Otak $\mu\text{g/g}$	Paru $\mu\text{g/g}$	Jantung $\mu\text{g/g}$	Otot $\mu\text{g/g}$	Testis $\mu\text{g/g}$	Gigi $\mu\text{g/g}$	T. kepala $\mu\text{g/g}$	T. paha $\mu\text{g/g}$	T. rusuk $\mu\text{g/g}$	Bulu $\mu\text{g/g}$
2	4,39 (0)	3,40 (0)	4,30 (0)	4,36 (0)	4,50 (0)	15,28 (3,53)	13,15 (2,46)	15,29 (1,19)	18,44 (2,44)	0,55 (0,25)
4	4,44 (0)	5,26 (0)	5,09 (0)	5,54 (0)	5,15 (0)	13,83 (0,90)	13,98 (0,75)	14,99 (0,95)	18,70 (1,10)	1,05 (0,85)
6	4,70 (0)	4,73 (0)	6,04 (0)	5,15 (0)	4,10 (0)	22,35 (0,70)	20,58 (0,50)	28,25 (0,55)	32,53 (0,60)	0,86 (0,50)
8	4,22 (0)	8,53 (0)	6,12 (0)	8,40 (0)	6,11 (0)	17,73 (0,70)	15,95 (0,50)	20,31 (0,55)	27,86 (0,46)	1,02 (0,90)
10	8,83 (0)	6,55 (0)	8,62 (0)	5,99 (0)	5,72 (0)	17,57 (0,20)	26,93 (0,10)	26,71 (0,30)	40,96 (0,41)	0,90 (0,60)

( ) : nilai kelompok kontrol

yaitu 3-9  $\mu\text{g/g}$ , tidak nampak akumulatif. Kadar plumbum dalam jaringan keras senantiasa lebih tinggi dari pada jaringan lunak, namun kadar plumbum dalam tulang rusuk yang secara konsisten lebih tinggi daripada jaringan-jaringan yang lain sebab dalam analisis sampel tulang rusuk susah dipisahkan dari jaringan sumsum tulang. Kadar plumbum dalam bulu sangat rendah.

### Pemeriksaan Patologik

#### Makroskopik

Ginjal dan hati nampak pucat dan sedikit kekuningan pada tikus kelompok perlakuan sejak minggu ke-6 sampai minggu ke-10. Jaringan tubuh yang lain termasuk sumsum tulang terlihat normal.

#### Mikroskopik

Hati tikus kelompok perlakuan dari minggu ke-6 sampai minggu ke-10 nampak degenerasi hidrofik, pelebaran dan kongesti sinusoid. Pada ginjal terlihat vakuolisasi sel-sel epitel dan pelebaran lumen tubulus, banyak yang mengandung sel dan ekskret debris. Ruang kapsula Bowman sering melebar. Tidak ditemukan benda-benda inklusi baik dalam ginjal maupun hati.

Pendarahan dan kongesti sering terlihat pada jaringan paru tikus kelompok perlakuan, namun perubahan tersebut semakin parah seiring dengan lamanya waktu penelitian. Jaringan lambung dan usus secara mikroskopik normal.

Apabila dibandingkan dengan tikus kelompok kontrol, testis tikus kelompok perlakuan terlihat perubahan yang mencolok



terhadap struktur tubulus semeniferi dengan adanya reduksi diameter, pelepasan lapisan germinal hiposeluler dari membran basalis, tidak adanya proses spermatogenesis, cedera pada spermatosit bahkan spermatid disertai udem dari tingkat ringan sampai sedang.

Pada jaringan serebrum dan serebelum terlihat degenerasi dan vakuolisasi sel saraf, gambaran berbusa atau udem. Perubahan serupa terjadi pada medula spinalis tikus kelompok perlakuan.

Pemeriksaan mikroskopik elektron jaringan ginjal tikus perlakuan pada minggu ke-10, terlihat perubahan pada sel epitel tubulus proksimal. Lisosom berbentuk pleomorfik dan besar, pembengkakan mitokondria disertai pemendekan atau kehilangan krista, tidak terlihat pembentukan benda-benda inklusi intranukleus. Perubahan serupa dijumpai pada sel-sel hati.

Perubahan pada serebrum, serebelum dan medula spinalis konsisten dengan pembengkakan dan kerusakan pada serabut mielin. Perubahan tersebut semakin parah seiring dengan lama waktu penelitian.

Pada penelitian ini digunakan dosis plumbum organik yang sangat rendah yaitu 1,5 mg trietil plumbum asetat (0,3%) dibandingkan dengan pemberian 0,5 g plumbum asetat netral pada penelitian terdahulu (Hariono, 2005). Lebih besar proporsi plumbum dari senyawa trietil plumbum asetat yang diabsorpsi melalui gastrointestinal bila dibandingkan dengan senyawa plumbum asetat netral. Juga lebih banyak plumbum yang diekskresikan melalui urin. Temuan yang menarik disini adalah persentase plumbum yang diabsorpsi nampak lebih tinggi dibandingkan dengan absorpsi senyawa plumbum anorganik. Disini ada tiga kemungkinan, untuk menjelaskan tentang peningkatan absorpsi. Pertama, penurunan pH lambung sehubungan dengan stres dapat meningkatkan absorpsi plumbum dengan cara memfasilitasi konversi senyawa trietil plumbum menjadi dietil plumbum dan monoetil plumbum sehingga dengan cepat diabsorpsi oleh saluran gastrointestinal. Telah diketahui bahwa di bawah kondisi klorinasi, senyawa plumbum organik dapat terkonversi

menjadi trietil plumbum, dietil plumbum klorida, monoetil plumbum triklorida dan senyawa plumbum anorganik (Nozaki dan Hatotani, 1967). Kedua, hal ini dimungkinkan karena adanya perubahan kondisi lapisan mukosa sehingga akan meningkatkan proses absorpsi. Namun, tidak ditemui adanya perubahan struktural pada saluran gastrointestinal pada pemeriksaan mikroskopik cahaya. Ketiga, kemungkinan masalah kontribusi yaitu dengan pemberian plumbum dosis rendah akan memfasilitasi asupan plumbum lebih efisien dibandingkan dengan pemberian plumbum dosis besar (Blakley *et al.*, 1980).

Senyawa plumbum organik lebih cepat diabsorpsi melalui saluran gastrointestinal dan alveoli paru daripada senyawa plumbum anorganik. Senyawa plumbum anorganik, sebaliknya tidak diabsorpsi lewat kulit, kurang dari separuh partikel plumbum yang terinspirasi akan diabsorpsi oleh paru, dan hanya sekitar 10% plumbum yang terabsorpsi melalui saluran gastrointestinal (Rabinowitz *et al.*, 1974; WHO, 1977).

Kadar plumbum darah pada tikus perlakuan dengan trietil plumbum asetat (senyawa organik) mencapai 28 mg/mL, hal ini lebih tinggi dibandingkan dengan kadar plumbum 1,52 mg/mL pada tikus perlakuan dengan senyawa anorganik (Hariono, 2005). Senyawa plumbum organik seperti trietil plumbum mempunyai afinitas yang lebih tinggi terhadap globin daripada senyawa plumbum anorganik. Pada tikus, trietil plumbum berikatan dengan globin dari hemoglobin, situs ikatan terjadi pada hemoglobin tetramer tidak pada hemoglobin monomer (Byington *et al.*, 1980). Afinitas ini sangat tinggi, sebagai contoh eritrosit tikus mengikat lebih banyak senyawa plumbum organik daripada sel manusia (Byington *et al.*, 1980), dan hemoglobin tikus lebih kaya akan gugus sulfhidril daripada hemoglobin mamalia yang lain (Antonini dan Brunori, 1971). Koleksi urin dari tikus perlakuan mengandung kadar plumbum lebih rendah daripada dalam darah. Kadar plumbum dalam urin tergantung pada asupan cairan dan ekskresinya, hal ini

mengindikasikan bahwa trietil plumbum tidak terkonsentrasi dalam urin dibandingkan dalam darah. Sekitar 2% dari plumbum dalam senyawa trietil plumbum diekskresikan melalui urin sementara hanya 0,006% dari senyawa plumbum anorganik diekskresikan lewat urin (Hariono, 2005). Bolanowska (1968) melaporkan bahwa ekskresi trietil plumbum pada tikus adalah lamban, sekitar 1% dari dosis yang diberikan pada setiap hari akan diekskresikan melalui urin.

Kandungan plumbum dalam ginjal dan hati adalah serupa namun kandungan ini lebih tinggi daripada jaringan lunak yang lain termasuk otak. Kadar yang rendah pada otak menarik perhatian sebab gejala saraf sangat terlihat pada tikus percobaan ini. Menurut Hass *et al.* (1964) dan Schepers (1964), hati, ginjal dan otak merupakan organ sasaran untuk deposisi senyawa plumbum organik. Pada dosis lebih rendah, misalnya seperti pada penelitian ini, relatif lebih banyak plumbum tertahan dalam ginjal daripada hati (Blakley *et al.*, 1980). Apabila dosis tinggi diberikan maka relatif lebih banyak terakumulasi dalam otak (Kehoe danThamann, 1981). Pada penelitian ini, kemungkinan kadar plumbum darah yang tinggi mampu mempengaruhi fungsi saraf, karena seperti telah dilaporkan bahwa *half life* plumbum dalam otak tikus yang dipapari dosis toksik trietil plumbum berkisar 7 sampai 8 hari (Hayakawa, 1972). Dapat dibandingkan dengan *half life* dalam hati 40 hari dan ginjal 15 hari dengan konsentrasi puncak dalam kadar organ ini setelah 2 sampai 5 hari (Hayakawa, 1972).

Kadar plumbum dalam jaringan tulang disini lebih rendah dibandingkan dengan tikus perlakuan dengan plumbum anorganik (Hariono, 2005). Menurut Jensen (1984), hanya sejumlah kecil plumbum dari senyawa plumbum organik yang terakumulasi dalam tulang hewan dan manusia. Secara umum, pemaparan senyawa plumbum organik misalnya tetraetil plumbum pada hewan laboratorium mempunyai pola distribusi plumbum yang sama seperti yang terjadi pada manusia dan konsentrasi total dalam organ juga serupa (Davis *et al.*, 1963).

Pada penelitian ini tidak ada perubahan level BUN, kreatinin dan ALT yang signifikan. Namun demikian, Boeckx *et al.* (1977) dan Robinson (1978) melaporkan bahwa BUN, ALT, kreatin fosfokinase (CPK), potasium dan amonia meningkat pada manusia yang mengalami keracunan tetraetil plumbum.

Pemeriksaan histopatologik parenkim ginjal memperlihatkan perubahan degeneratif tubulus proksimal, tetapi tidak dijumpai benda-benda inklusi. Ini mengindikasikan bahwa ada perbedaan mekanisme metabolik, demikian juga mekanisme patogenik, atau konsentrasi plumbum dalam sel ginjal tidak cukup untuk terbentuknya senyawa kompleks plumbum-protein yang biasanya terdeteksi sebagai benda-benda inklusi.

Pemeriksaan mikroskopik elektron terlihat pembesaran vakuola dan lisosom dalam sel epitel tubulus proksimal. Perubahan-perubahan ini tidak terjadi pada jaringan kontrol. Perubahan serupa telah dilaporkan oleh Chang *et al.* (1980) pada kelinci yang mengalami keracunan tetraetil plumbum. Makna patologik dan fungsi alami secara tepat dari perubahan lisosom ini masih belum diketahui. Struktur abnormal yang terjadi sebagai refleksi adanya perubahan pada fungsi normal lisosom (Prieur *et al.*, 1972).

Jumlah vakuola yang banyak dalam sel-sel hati tikus perlakuan memberi tanda bahwa terjadi degenerasi hidropik. Afinitas dan ikatan plumbum yang relatif kuat terhadap membran mitokondria mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran, pembengkakan disertai marginasi krista bahkan sampai menghilang. Dampak selanjutnya sel mengalami cedera atau gangguan aktivitas metabolismenya.

Senyawa trietil plumbum asetat yang diberikan pada tikus percobaan dengan dosis sangat rendah (kurang dari 1%) dibandingkan dosis senyawa plumbum anorganik, plumbum asetat netral telah memberikan dampak negatif yang lebih parah. Rata-rata persentase absorpsi plumbum lebih tinggi, namun konsentrasi plumbum dalam jaringan lebih rendah. Sebaliknya konsentrasi *circulating plumbum* (dalam darah) yang tinggi, dengan asumsi terikat pada globin.



Gejala saraf akibat keracunan plumbum, mungkin sebagai refleksi dari tingginya konsentrasi *circulating plumbum*. Walaupun senyawa plumbum organik hanya menempati persentase yang kecil dalam lingkungan, namun mempunyai potensi toksik yang tinggi.

Dari hasil dan diskusi dapat disimpulkan bahwa pengaruh pemberian senyawa plumbum organik secara kronis menyebabkan hambatan pertumbuhan tanpa anemia, absorpsi plumbum melalui saluran gastrointestinal dan ekskresi plumbum melalui urin yang lebih besar daripada pemberian plumbum anorganik. Di samping itu tidak terjadi perubahan level kreatinin, BUN dan ALT, namun terjadi perubahan mikroskopik dan ultramikroskopik tanpa terbentuk benda-benda inklusi intranukleus, serta terjadi akumulasi logam plumbum dalam jaringan lunak maupun keras.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Antonini, E. and Brunori, M. 1981. In: *Frontiers of Biology*. Vol. 21, New York. p. 68.
- Bartels, H. and Bohmer, M. 1971. Eine mikromethode zur kreatininbestimmung. *Clin. Chim. Acta*. 32:81-85.
- Benjamin, M.M. 1978. *Outline of Veterinary Clinical Pathology*, 3<sup>rd</sup>ed. The Iowa State University Press, Ames, USA. Pp. 61-62.
- Blakely, B.R., Sisodia, C.S. and Mukhur, T.K. 1980. The effect of methyl mercury, tetraethyl lead and sodium arsenite on the humoral immune response in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 52: 245-254.
- Boeckx, R.L., Postl, B. and Coodin, F.J. 1977. Gasoline sniffing and tetraethyl lead poisoning in children. *Pediatr.* 60: 140-145.
- Bolanowska, W. 1988. Distribution and excretion of triethyl lead in rats. *Brit. J. Ind. Med.* 25: 203-208.
- Bolanowska, W., Piotrowski, J. and Garczynski, H. 1967. Triethyl lead in the biological material in cases of acute tetraethyl lead poisoning. *Arch. Toxicol.* 22: 278-282.
- Byington, W.H., Yates, D.A. and Mullins, W.A. 1980. Binding of triethyl lead chloride by haemoglobin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 52: 379-385.
- Chang, L.W., Wode, P.R., Reuhl, K.R. and Olson, M.J. 1980. Ultrastructural changes in renal proximal tubules after tetraethyl lead intoxication. *Environ. Res.* 23: 208-223.
- Coujolle, D. and Voisin, M.C. 1966. Toxicité des acétates de triéthylplomb. *Ann. Pharm. Françaises* 24:17.
- Cremer, J.E. 1959. Biochemical studies on the toxicity of tetraethyl lead and other organolead compounds. *Brit. J. Ind. Med.* 16:191-199.
- Davis, R.K., Harton, A.W., Larson, E.E. and Stemmer, K.L. 1963. Inhalation of tetramethyl lead and tetraethyl lead - A comparison of the effects in rats and dog. *Arch. Environ. Health.* 6: 473-479.
- De Jonghe, W.R.A., Chakraborti, D. and Adams, F.C. 1981. Identification and determination of individual tetraalkyl-lead species in air. *Environ. Sci. Technol.* 15 (10): 1217-1222.
- Grandjean, P. 1984. Organolead exposure and intoxication. In: *Biological Effect of Organolead Compounds* (Grandjean, P.ed.), CRC Press, Inc. Boca Raton, FL., pp. 227-241.

- Gutmann, I. and Bergmeyer, H.U. 1974. Urea. In: *Methods of Enzymatic Analysis*, (Bergmeyer, H.U. ed.) 2<sup>nd</sup>ed. Academic Press, Inc. New York. p.11791.S
- Habibi, K. 1970. Characterization of particulate lead in vehicle exhaust experimental techniques. *Environ. Sci. Technol.* 4: 239-248.
- Hariono, B. 2005. Efek pemberian plumbum (Timah hitam) anorganik pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *J. Sain Vet.* Vol. 23 (2): 107-118.
- Hass, G.M., Brown, D.V.L., Eisenstein, R. and Heinmens, A. 1964. Relations between lead poisoning in rabbit and man. *Amer. J. Pathol.* 45: 691-727.
- Hayakawa, K. 1972. Microdetermination and dynamic aspects of *in vitro* alkyl compound. II. *Jpn. J. Hyg.* 26:526.
- Hyde, W., Kiesey, J., Ross, P.F. and Stahr, H.M. 1977. *Analytical methods manual*. Iowa State University Press, Ames. Iowa.
- Jain, N.C. 1986. *Schalm's Veterinary Hematology*, 4<sup>th</sup>ed., Lea and Febiger, Philadelphia. Pp. 29-33.
- Jarwi, A.W.P, Markall, R.N. and Potter, H.R. 1981. Decomposition of organolead compounds in aqueous systems. *Environ. Res.* 25: 241-249.
- Jensen, A.A. 1984. Metabolism and Toxicokinetics. In: *Biological Effects of Organic Lead Compounds*, (Grandjean, P., Grandjean, E.C. eds.), CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp. 97-115.
- Kehoe, R.A. and Thamann, F. 1931. The behavior of lead in the animal organism. II. Tetraethyl lead. *Amer. J. Hyg.* 13:478.
- Nozaki, M. and Hatotani, H. 1967. Treatment of tetraethyl lead manufacturing wastes. *Water Res.* 1: 167-177.
- Page, A.L. and Ganje, T.J. 1970. Accumulation of lead in soil for regions of high and low motor vehicle traffic density. *Environ. Sci. Technol.* 4: 140-142.
- Prieur, D.J., Davis, W.C. and Padgett, G.A. 1972. Defective function of renal lysosomes in mice with the Chediak-Higashi Syndrome. *Amer. J. Pathol.* 67: 227-236.
- Robinowitz, M.B., Wetherill, G.M. and Koplle, J.D. 1974. Studies of human lead metabolism by use of stable isotope tracers. *Environ. Health Perspect. Exp. Issue* 7: 145-155.
- Robinson, R.O. 1978. Tetraethyl lead poisoning from gasoline sniffing. *J. Amer. Med. Assoc.* 240:1373-1374.
- Schepers, G.W.H. 1964. Tetraethyl lead and tetramethyl lead-Comparative experimental pathology: Part I. Lead absorption and toxicology. *Arch. Environ. Health* 8: 277-295.
- WHO (World Health Organization). 1977. *Environmental Health Criteria 3: Lead*, World Health Organization, Geneva. pp. 19, 91-92.
- Wigfield, D.C. and Farant, J.P. 1981. Assay of  $\delta$ -amino levulinate dehydratase in 10 mL of blood. *Clin. Chem.* 27 (1): 100-103.